

**HOCHMOLEKULARE DERIVATE DES
FIBRINOGENS UND IHRE RELATION ZUM
GESAMTFIBRINOGENGEHALT NACH
ENDOTOXININFUSION BEI SCHWANGEREN
KANINCHEN**

Michael Niedertzoll

1974

Aus der I. Universitäts-Frauenklinik München

Direktor : Prof. Dr. med. Josef Zander

HOCHMOLEKULARE DERIVATE DES FIBRINOGENS UND
IHRE RELATION ZUM GESAMTFIBRINOGENGEHALT NACH
ENDOTOXININFUSION BEI SCHWANGEREN KANINCHEN

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig - Maximilians - Universität zu München

vorgelegt von

Michael Niedertzoll

aus Augsburg

- 1974 -

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München :

Berichterstatter : Priv.-Doz. Dr. Graeff

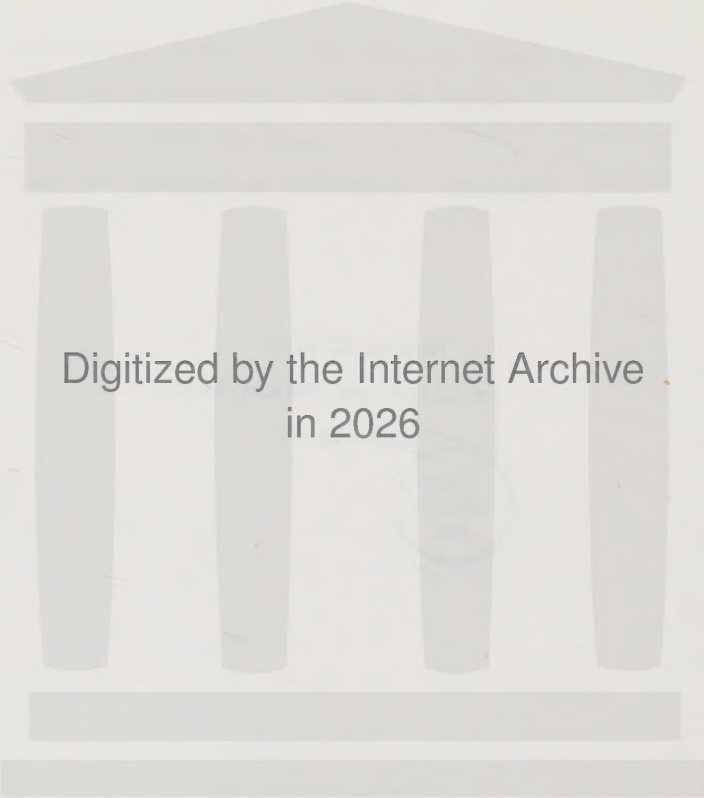
Mitberichterstatter : Prof. Dr. Zander

Dekan : Prof. Dr. Spann

Tag der mündlichen Prüfung : 26.3.1974



Meinen Eltern
in Liebe und Dankbarkeit
zugeeignet



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I n h a l t

	Seite
A) Einleitung	1
B) Material und Methoden	3
I. Reagenzien	3
II. Versuchstiere	3
III. Methoden	
1. Tierexperimentelles Vorgehen	4
2. Hämatologische Untersuchungen	5
C) Ergebnisse	9
D) Diskussion	15
E) Zusammenfassung	19
F) Literaturverzeichnis	21

A) Einleitung

Beim graviden Kaninchen kann durch eine kontinuierliche Infusion von Endotoxin im letzten Drittel der Schwangerschaft eine disseminierte intravaskuläre Gerinnung (DIG) ausgelöst werden. Die dabei zu beobachtenden Veränderungen im Gerinnungssystem, im besonderen der Abfall der Plättchenzahlen, das Auftreten von Fibrinmonomeren und in der Terminalphase das starke Abfallen der Plasmafibrinogenkonzentration mit dem Auftreten von glomerulären Fibrinthromben entsprechen im Prinzip den Veränderungen beim nicht schwangeren Tier. Lediglich der Ablauf dieser Veränderungen scheint wesentlich beschleunigt zu sein.

Bei dem Experiment, das dieser Arbeit zugrunde liegt, wurde das Auftreten von löslichen Fibrinmonomerkomplexen in der Zirkulation mit Hilfe des Äthanoltestes nach GODAL und ABILDGAARD (1966) kontinuierlich über den Infusionszeitraum von 9 Stunden beobachtet. Diese Fibrinmonomerkomplexe können in vitro durch Äthanolzugabe in ihrem Löslichkeitsverhalten so beeinflußt werden, daß sie unter Ausbildung von Fädchen oder Gelen präzipitieren.

Es fiel uns auf, daß bei schwangeren Kaninchen schon vor Beginn der Endotoxininfusion geringe Mengen von Fibrinmonomeren durch den Äthanoltest nachgewiesen werden konnten (feinste Fädchen). Nach 3 und 6 Stunden der Endotoxininfusion schien die Konzentration der Fibrin-

monomere im Plasma anzusteigen (gelartiges Gerinnsel im Äthanoltest). Am Ende des Versuches ging dann die Menge des äthanol-fällbaren Materials wieder zurück.

Es schien nun interessant, die bei der Endotoxininfusion bei schwangeren Kaninchen auftretenden löslichen Fibrinmonomerkomplexe zu studieren und ihre physiko-chemischen Eigenschaften genauer zu beschreiben.

Erste Hinweise darauf, daß die im Verlauf einer disseminierten intravaskulären Gerinnung auftretenden löslichen Fibrinmonomerkomplexe ein höheres Molekulargewicht haben als das native Fibrinogenmolekül, erbrachten die Untersuchungen von FLETCHER und Mitarbeiter 1970, VERMYLEN und Mitarbeiter 1971, und von GRAEFF und Mitarbeiter 1972.

Die vorliegende Studie befaßt sich mit der Frage, in wieweit die physiologischerweise in der Schwangerschaft vorkommenden niedrigen Spiegel von löslichen Fibrinmonomerkomplexen für die besondere Prädisposition des graviden Tieres gegenüber der Entwicklung einer disseminierten intravaskulären Gerinnung verantwortlich sind.

B) Material und Methoden

I. Reagenzien

1. Endotoxin: Es wurde Endotoxin von *Salmonella typhi* verwendet (S typhi T 58 Op 151268, Behringwerke). Es wurde in 5%iger Glukose gelöst. Die zugeführte Menge an Endotoxin lag bei 25 ug/kg/h.
2. Glukose: 5%ig, pyrogenfrei.
3. Pentothal-Natrium zur Tötung der Tiere.
4. Novocain 0,5%ig diente als Lokalanästhetikum.
5. Natriumzitrat 3,8 g, TES 1,38 g, 10 ml Trasylol (Bayer, Leverkusen), aqua dest. ad 100 ml, pH 7,5 als Antikoagulans. Neun Teile Blut wurden mit einem Teil Zitrat vermischt.
6. Valium 10 (Roche) zur Sedierung der Tiere: 10 mg in 2 ccm i. m.

II. Versuchstiere

Für den Versuch wurden weibliche Kaninchen mit einem Körpergewicht zwischen 2,8 und 4,9 kg verwendet. Die Endotoxininfusionen wurden im letzten Drittel der Schwangerschaft durchgeführt. Das Vorgehen entsprach dem bei der Endotoxininfusion beim nichtschwangeren Kaninchen zur Anwendung gekommenen Verfahren (BELLER und GRAEFF, 1967; GRAEFF und BELLER, 1968; GRAEFF et al., 1968; BELLER et al., 1969). Die Tiere wurden unter üblichen Bedingungen im Tierstall gehalten und mit einer Standarddiät und Wasser ad libitum ernährt.

III. Methoden

1. Tierexperimentelles Vorgehen

a) Infusionstechnik: Der Ohrvenenkatheter wurde nach der von RODRIGUEZ-ERDMAN 1959 entwickelten Methode gelegt. Unter Lokalanästhesie wurde die zentrale Ohrvene im schädelnahen Bereich freigelegt und mit einer Flügelkanüle punktiert. Durch das Lumen wurde ein silikonisierter Polyvinylkatheter in die vena cava superior vorgeschoben und fixiert. Über diesen Katheter wurde den Tieren das gelöste Endotoxin über 7 bis 9 Stunden infundiert. Die Infusionsgeschwindigkeit konnte mit einer Infusionspumpe (Braun-Melsungen) reguliert werden. Vor Versuchsbeginn wurden die Tiere mit 5 mg Valium sediert.

b) Blutentnahme:

Um die für die weitere Charakterisierung der löslichen Fibrinmonomerkomplexe notwendigen größeren Blutmengen zu gewinnen, wurden die Tiere nach Herzpunktion entblutet. In dieser Weise wurden 6 nichtschwängere weibliche Tiere, 6 schwängere Tiere im letzten Drittel der Schwangerschaft und 6 Tiere nach 9-stündiger Endotoxininfusion entblutet. Im weiteren wurde bei einer Gruppe von virginellen Tieren, die lediglich Glukose infundiert erhielt, ebenso verfahren.

Das Blut wurde 1:10 mit Zitrat vermischt. Thrombozyten-armes Plasma wurde durch Zentrifugieren in der Kühlzentrifuge erhalten.

2. Hämatologische Untersuchungen

a) Die Thrombozyten wurden im Zitrat-Vollblut nach Hämolyse direkt im phasenkontrastmikroskopischen Bild ausgezählt (FEISSLY und LUDIN, 1949).

b) Reinigung des Plasmas

Fibrinogen und seine Derivate wurden aus dem Plasma gefällt nach einer modifizierten Methode von STRAUGHN und WAGNER (1966). Zu Zitratplasma wurde bei 4° C kristallines β -Alanin (pro analysi, Nr. 11490, Serva, Heidelberg) bis zu einer Endkonzentration von 2,5 Mol hinzugegeben (GRAEFF und v. HUGO, 1972). Die Probe wurde 30 Minuten lang mit einem Magnetrührer im Eisbad gerührt. Nach Sedimentation in der Kühlzentrifuge (9000 g, 20 Min.) wurde der Überstand abpipettiert. Das Präzipitat wurde unter vorsichtigem Rühren bei Zimmertemperatur in Tris-Cl-Zitratpuffer (Stammlösung A = 12,1 g Tris, aqua dest. ad 1000 ml, Stammlösung B = 0,1 n Salzsäure; 500 ml Stammlösung A + 384 ml Stammlösung B + 6,76 g NaCl + 3,8 g Na-Zitrat, pH 7,8, aqua dest. ad 1000 ml) wieder aufgelöst (BELLER und GRAEFF, 1970). Der Puffer enthielt außerdem 100 Kallikrein-Inaktivator-Einheiten (KIE) Trasylol pro ml.

c) Gel-Elektrophorese

Die Elektrophorese wurde in einem wassergekühlten Flach-Gel-Elektrophoresegerät von Desaga (Heidelberg) ausgeführt. Die Trennung der Plasmaproteine erfolgte durch eine 5%ige Polyacrylamid (PAA)- Gel-Elektrophorese (5% Trenngel, pH 8,9, Länge $7 \pm 0,25$ cm, Stärke 0,3 cm,

Spannung 500 V, Laufzeit 75 Min.; Sammelgel: pH 6,7, Länge $3 \pm 0,25$ cm, Spannung 200 V, Laufzeit 45 Min.; Glycin-Elektrodenpuffer pH 3,8), (MAURER, 1968). Alle benützten Chemikalien waren analytisch rein und wurden von Serva (Heidelberg, Nr. 39026 Reihe DC-II) bezogen. Die Gele wurden eine Stunde mit 1%igem Amido-Schwarz 10 B gefärbt, in 0,7%iger Essigsäure elektrophoretisch entfärbt und anschließend photographiert. Fibrinogen und seine Derivate wurden durch ihre relative elektrophoretische Beweglichkeit im PAA-Gel charakterisiert: $u = l_1 \times l_2 / U \times t$ ($\text{cm}^2/\text{V} \times \text{sec}$). Dabei bedeuten l_1 die Länge des Trenngels, l_2 die Laufstrecke in cm, U die Spannung in Volt während der Trennung und t die Trennzeit in sec.

d) Immunpräzipitation

Fibrinogenverwandtes Antigen (FR-Antigen) wurde durch Intra-Gel-Immunpräzipitation mit monovalentem Antiserum identifiziert (Anti-Fibrinogen-Serum von der Ziege, freundlicherweise zur Verfügung gestellt von Herrn Prof. G. Müller-Berghaus, Giessen).

Für die Intra-Gel-Immunpräzipitation wurden zwei Gele in eine 80 x 80 x 30 mm große Plastikschaale gelegt, dazu kamen 2 ml Antiserum und 8 ml TES-Puffer (pH 7,5, Ionenstärke 0,15). Die Plastikschaale wurde ununterbrochen 48 Stunden lang geschüttelt. Danach konnten die meisten Immunpräzipitate mit bloßem Auge erkannt werden. Die Gele wurden entproteinisiert, indem sie locker an einem Plastikrähmchen befestigt wurden, wobei eine Dialysiermembran (Typ 27/32, Visking) benutzt wurde. Der Rahmen wurde in ein Entfärbebad gehängt (Desaga, Heidelberg),

das mit einem Liter kalter Trisglycin-Pufferlösung gefüllt war (Vorratslösung: 2,5 g Tris + 1,0 g Glycin, aqua dest. ad 100 ml, pH 9,15; Arbeitslösung 1:1000, pH 8,8). Die Stromstärke wurde konstant auf 9 mA gehalten. Der erfolgende Abfall der Spannung war hauptsächlich auf die ausgewaschenen Proteine zurückzuführen. Die Pufferlösung wurde immer erneuert, wenn die Spannung auf 100 V und darunter absank. Jedesmal wurden das Gel und die Dialysiermembran mit destilliertem Wasser gespült. Nach 24 bis 36 Stunden war das Gel frei von nichtpräzipitiertem Eiweiß. Die Präzipitationslinien wurden eine Stunde mit Amido-Schwarz 10 B gefärbt, in 0,7%iger Essigsäure elektrophoretisch entfärbt (200 mA) und anschließend photographiert.

e) Agarose-Gel-Chromatographie

Die Filtration in 6%igem Agarose-Gel wurde ausgeführt mit Biogel A 5 spherical agarose, 100 - 200 mesh (Bio-Rad Laboratorien, München). Eine 2,5 x 80 cm große Säule wurde mit Proben (5 bis 7 ml) beschickt, die 40 bis 100 mg Protein enthielten. Eluiert wurde mit Tris-Cl-Puffer, pH 7,6. Die Fließgeschwindigkeit betrug 14 ml/h, das Eluat wurde in 3,5 ml-Portionen aufgefangen und diese bei einer Wellenlänge von 280 nm ausgemessen.

- f) Die Menge der hochmolekularen Fibrinogenderivate wurde durch planimetrische Auswertung der Verteilungskurve des photometrisch ausgemessenen Eluats berechnet und in Prozenten des gesamten Fibrinogengehaltes ausgedrückt.

g) Plasmathrombingerinnungszeit

Plättchenarmes Plasma wurde durch Zugabe von Thrombin zur Gerinnung gebracht und der Zeitraum bis zur Gerinnungselbildung mit Hilfe eines Koagulometers nach SCHNITTGER und GROSS bestimmt (KUHN und GRAEFF, 1970).

C) Ergebnisse

1. Das wiederaufgelöste Präzipitat des gepoolten Plasmas von nichtschwangeren Kaninchen wurde der Agarose-Gel-Filtration unterworfen. Dabei wurde eine kleine Schulter bei 200 ml eluiert, es folgte ein Peak bei 245 ml (Fibrinogen)(siehe Abb. 1).

Gerinnbare Substanz wurde von 220 bis 270 ml mit einem Maximum bei 245 ml nachgewiesen.

Es bestanden annähernd 5% des gesamten Fibrinogengehaltes des Plasmas aus hochmolekularen Derivaten. Sie wurden in der Schulter vor dem Fibrinogenpeak eluiert.

Die elektrophoretische Untersuchung einer Fraktion dieser Schulter zeigte eine Proteinbande mit der relativen elektrophoretischen Beweglichkeit von $0,28 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{V sec.}$

Die Untersuchung einer Fraktion des Peaks bei 245 ml ergab eine Proteinbande mit der relativen elektrophoretischen Beweglichkeit von 0,43 (Fibrinogen).

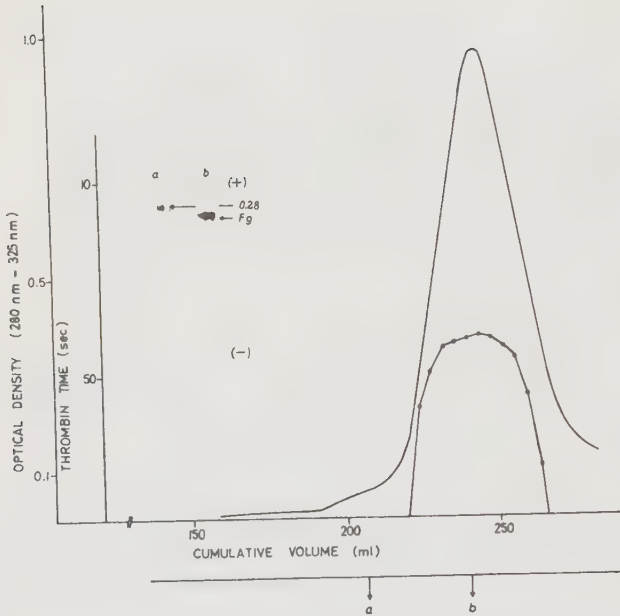


Abb. 1

Agarose-Gel-Filtration einer β -Alanin-gefällten Plasmaprobe von nichtschwangeren Kaninchen.

Die PAA-Gele auf der linken Seite der Abb. geben die bei a und b eluierten Fraktionen wieder.

Thrombinzeiten in den eluierten Fraktionen : 

2. Nach Agarose-Gel-Filtration des gepoolten Plasmas von schwangeren Kaninchen wurde bei 200 ml eine höhere Schulter als in Abb. 1 eluiert, bei 245 ml folgte der Fibrinogenpeak (siehe Abb. 2).

Gerinnbare Substanz wurde von 190 bis 270 ml nachgewiesen. Es bestanden 15 % des gesamten Fibrinogengehaltes des Plasmas aus hochmolekularen Derivaten.

Die elektrophoretische Untersuchung einer Fraktion der Schulter ergab, daß es sich auch hier um ein Produkt mit einer relativen elektrophoretischen Beweglichkeit von $0,28 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{V sec}$ handelte.

Die Untersuchung einer Fraktion des Peaks bei 245 ml ergab eine Proteinbande mit der relativen elektrophoretischen Beweglichkeit von 0,43 (Fibrinogen).

Die Untersuchung des Plasmas von schwangeren Kaninchen, die eine Glukosedauerinfusion erhalten hatten, zeigte identische Ergebnisse wie eben beschrieben.

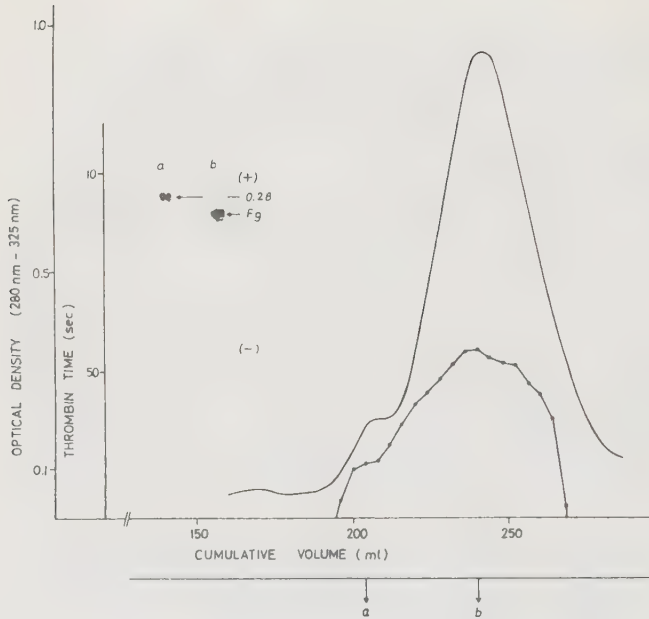


Abb. 2

Agarose-Gel-Filtration einer β -Alanin-gefällten Plasmaprobe von schwangeren Kaninchen.

Die PAA-Gele auf der linken Seite der Abb. geben die bei a und b eluierten Fraktionen wieder.

Thrombinzeiten in den eluierten Fraktionen :



3. Nach 7 bis 9-stündiger Endotoxininfusion waren Zeichen einer bestehenden Verbrauchskoagulopathie ein signifikanter Abfall der Thrombozyten auf Werte von durchschnittlich $30\,000/\text{mm}^2$; im Thrombelastogramm waren ein Anstieg der Reaktionszeit und ein Abfall der maximalen Amplitude nachweisbar. Alle Tiere entwickelten ein totales Nierenversagen. Intravaskuläre Gerinnsel wurden histologisch durch massive glomeruläre Mikrothromben gesichert. Die Agarosefiltration des gepoolten Plasmas zeigte bei 160 ml den Peak des Ausschlußvolumens, es folgte bei 200 ml eine Schulter und bei 245 ml der Fibrinogenpeak. Die hochmolekularen Derivate machten hier 40% des gesamten Fibrinogengehaltes aus. Sie bestanden jedoch nicht allein aus dem 0,28-Derivat, andere Derivate mit höherem Molekulargewicht wurden an der Position des Ausschlußvolumens eluiert.

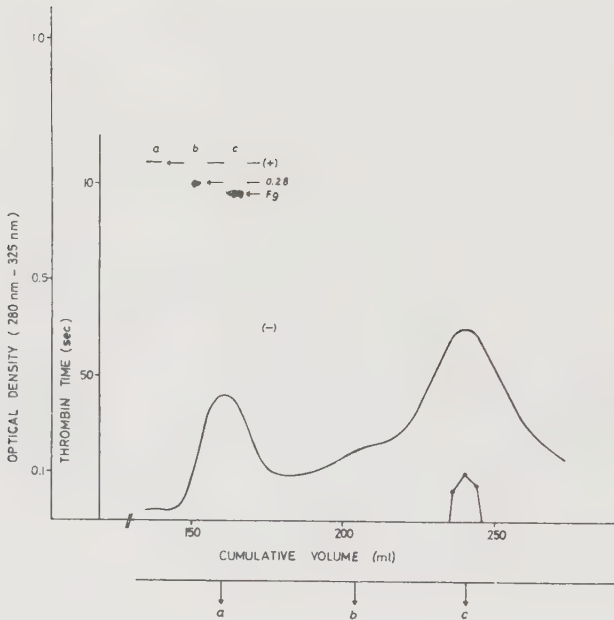


Abb. 3

Agarose-Gel-Filtration einer β -Alanin-gefällten Plasma-
probe von schwangeren Kaninchen nach 7- bis 9-stündiger
Endotoxininfusion.

Die PAA-Gele auf der linken Seite der Abb. geben die bei
a, b und c eluierten Fraktionen wieder.

Thrombinzeiten in den eluierten Fraktionen : 

D) Diskussion

Fibrinogenderivate mit einem höheren Molekulargewicht als Fibrinogen konnten bei nichtschwangeren und bei schwangeren Kaninchen sowie bei solchen, die im letzten Drittel der Schwangerschaft zur Auslösung einer DIG eine Endotoxininfusion erhalten hatten, nachgewiesen werden. Bei der ersten Gruppe betrug der Anteil der Fibrinogenderivate 5%, bei der zweiten 15% und bei der dritten 40% des gesamten Fibrinogengehaltes.

Elektrophoretische Untersuchungen zeigten bei allen drei Gruppen eine Proteinbande mit einer relativen elektrophoretischen Beweglichkeit von $0,28 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{V sec.}$ Diese wurde jeweils in den Fraktionen der Schulter vor dem Fibrinogenpeak eluiert.

Bei der dritten Gruppe traten zusätzlich Derivate mit einem Molekulargewicht höher als dem des 0,28-Derivates auf. Diese wurden an der Position des Ausschlußvolumens eluiert. Eine Komponente mit Verteilungsmuster und Wanderungsverhalten, das dem 0,28-Derivat entspricht, wurde in vitro nach Zugabe geringer Mengen Thrombins zu Plasma beobachtet (v.HUGO und GRAEFF, 1972). Dies könnte bedeuten, daß das in-vivo-Erscheinen eines solchen Derivates auf die Wirkung von Thrombin auf Fibrinogen zurückzuführen ist. Weitere Untersuchungen ergaben, daß bei PAA-Elektrophorese in Anwesenheit von 5-m Harnstoff das 0,28-Derivat verschwindet und dafür der Nachweis von Fibrinogen möglich ist.

Dies und die Position des Eluates nach Agarose-Gel-Filtration sowie das Wanderungsverhalten bei der PAA-Gel-Elektrophorese legen die Vermutung nahe, daß es sich bei dem 0,28-Derivat um einen Komplex aus einem Fibrinogen- und

einem Fibrinmonomer-Anteil (Dimer) und damit um ein Thrombinderivat des Fibrinogens handelt, dessen Anteile größtenteils nicht kovalent gebunden sind.

Weiterhin kann diskutiert werden, daß das O,28-Derivat dem Komplex entspricht, der von SHAINOFF und PAGE (1962) und von HARDER und STRAUB (1972) beschrieben wurde.

Es scheint, daß das Auftreten bzw. der Anstieg des O,28-Derivates eine sogenannte Hyperkoagulabilität anzeigt und die Bereitschaft zum Auftreten einer DIG erhöht.

Mag auch diskutiert werden, daß bei den nichtschwangeren Kaninchen das Auftreten des O,28-Derivates auf technische Schwierigkeiten bei der Blutgewinnung zurückzuführen ist, so zeigt doch der Anstieg dieses Derivates bei den schwangeren Tieren den Zustand einer Hyperkoagulabilität eindeutig an.

Vorwiegend das O,28-Derivat, in Spuren auch ein O,18-Derivat fand sich - wenn auch insgesamt nur in geringen Konzentrationen - bei unkomplizierten menschlichen Schwangerschaften in der 38. - 40. Woche wie unter der Geburt. Dieselben Ergebnisse brachten Untersuchungen bei Patienten im Zustand nach Herzinfarkt (GRAEFF, v. HUGO und MARX, 1972). Auch hier wurde das O,28-Derivat und ein O,18-Derivat beobachtet. Der Anteil beider lag unter 10% des gesamten Fibrinogengehaltes, wobei das O,18-Derivat quantitativ gegenüber dem O,28-Derivat zurücktrat. Diese Befunde sprechen auch hier für eine Hyperkoagulabilität.

Bei der Untersuchung des Plasmas der schwangeren Kaninchen mit DIG beliefen sich die hochmolekularen Derivate auf 40% des gesamten Fibrinogengehaltes. Neben dem O,28-Deri-

vat traten jetzt aber Produkte mit höherem Molekulargewicht als dem des O,28-Derivates auf.

Diese Produkte wurden in der vorliegenden Studie nicht weiter durch ihre relative elektrophoretische Beweglichkeit charakterisiert. Sie könnten zum Teil einer heterogenen Gruppe von Proteinen entsprechen, welche zwischen dem O,28-Derivat und dem Kathodenende des PAA-Gels nachgewiesen wurden (v. HUGO und GRAEFF, 1973). Sie besteht wahrscheinlich aus Tri-, Tetra- oder höheren x-Meren von Monomereinheiten ähnlich denen, die von SMITH und BANG (1972) beschrieben wurden.

Im Nabelvenenblut asphyktischer Neugeborener mit Zeichen einer DIG konnte neben dem O,28-Derivat ein O,18-Derivat nachgewiesen werden (GRAEFF, v. HUGO, 1972; GRAEFF und Mitarbeiter, 1972; v. HUGO und GRAEFF, 1972).

Dasselbe Muster fand sich auch im Plasma einer Patientin mit schwerer Eklampsie und Zeichen einer DIG (GRAEFF und v. HUGO, 1972).

Ein Derivat mit ähnlichen Eigenschaften wie das O,18-Derivat konnte in vitro durch Lyse eines stabilisierten Plasmagerinnsels dargestellt werden (v. HUGO und GRAEFF, 1972). Die Zugabe von Thrombin zu Plasma ergab kein Produkt mit ähnlichen Eigenschaften. Weiterhin zeigte sich, daß das O,18-Derivat in 5-m Harnstoff beständig war.

Es kann deshalb angenommen werden, daß das in-vivo-Auftreten des O,18-Derivates auf eine kombinierte Wirkung von Thrombin und Plasmin auf Fibrinogen zurückzuführen ist mit dem Ergebnis eines Defektpolymeres, dessen Anteile kovalent gebunden sind.

Zusammenfassend kann also festgestellt werden, daß dieses Muster von zwei oder mehreren hochmolekularen Fibrinogen-derivaten mit Verschiebung zu höhermolekularen Produkten für schwere Formen der DIG pathognomonisch zu sein scheint.

E) Zusammenfassung

Auftreten und physikochemische Eigenschaften hochmolekularer Fibrinogenderivate wurden untersucht bei nichtschwangeren Kaninchen, bei schwangeren Tieren und bei solchen, bei denen im letzten Drittel der Schwangerschaft durch eine Endotoxindauerinfusion eine disseminierte intravaskuläre Gerinnung erzeugt wurde. Zum Vergleich erhielt eine Gruppe von schwangeren Kaninchen eine Glukosedauerinfusion über 9 Stunden.

Fibrinogen und seine Derivate wurden aus Plasmaproben durch Zugabe von 2,5-m β -Alanin gefällt. Das wiederaufgelöste Präzipitat wurde einer Agarose-Gel-Filtration unterworfen, Fibrinogen und seine Derivate wurden in den eluierten Fraktionen mittels PAA-Elektrophorese und Intra-Gel-Immunpräzipitation identifiziert. Fibrinogenverwandtes Antigen (FR-Antigen) wurde im Gel direkt durch Intra-Gel-Immunpräzipitation nachgewiesen, wobei monovalentes Antiserum Verwendung fand.

Die Menge der hochmolekularen Derivate wurde durch planimetrische Auswertung der photometrisch ausgemessenen Verteilungskurve der eluierten Fraktionen berechnet und in Prozenten des gesamten Fibrinogengehaltes ausgedrückt. Bei nichtschwangeren Kaninchen bestanden annähernd 5% des gesamten Fibrinogengehaltes aus hochmolekularen Derivaten. Diese wurden in der niedrigen Schulter bei 200 ml vor dem Fibrinogenpeak bei 245 ml eluiert. Die elektrophoretische Untersuchung der Vorschulter zeigte eine Proteinbande der elektrophoretischen Beweglichkeit von $0,28 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{V sec.}$

Im Plasma von schwangeren Kaninchen belief sich die Konzentration des 0,28-Derivates auf 15% des gesamten Fibrinogengehaltes. Dieses Produkt wurde ebenfalls bei 200 ml in der Vorschulter des Fibrinogenpeaks eluiert. Identische Ergebnisse wurden bei der Untersuchung des Plasmas von schwangeren Kaninchen nach einer Dauerinfusion mit 5%iger Glukose gefunden.

Nach 7- bis 9-stündiger Endotoxininfusion fiel die Zahl der Thrombozyten auf durchschnittlich $30\,000/\text{mm}^3$, im Thrombelastogramm zeigte sich eine Verlängerung der Reaktionszeit mit Verkleinerung der maximalen Amplitude, alle Tiere entwickelten ein totales Nierenversagen. Eine intravaskuläre Gerinnung wurde histologisch gesichert durch den Nachweis massiver glomerulärer Mikrothromben. Der Anteil hochmolekularer Fibrinogenderivate in dieser Gruppe von endotoxinbehandelten Tieren betrug 40% des gesamten Fibrinogengehaltes. Diese bestanden jedoch nicht allein aus dem 0,28-Derivat, andere Derivate mit höherem Molekulargewicht wurden an der Position des Ausschlußvolumens eluiert.

F) Literaturverzeichnis

- BELLER, F.K., GRAEFF, H.: Deposition of glomerular fibrin in the rabbit after infusion with endotoxin. Nature (Lond.) 215, 295 (1967)
- BELLER, F.K., GRAEFF, H., GORSTEIN, F.: Disseminated intravascular coagulation during the continuous infusion of endotoxin in rabbits. Morphological and physiological studies. Amer. J. Obstet. Gynec. 103, 544 (1969)
- BELLER, F.K. and GRAEFF, H.: Equipment and general requirement of the coagulation laboratory. In: BANG, N., BELLER, F.K., DEUTSCH, E. and MAMMEN, E., Methods and Theories of Blood Coagulation. Academic Press, New York, G. Thieme, Stuttgart, 1970
- BLEYL, U., BÜSING, C. M.: Kreislaufschock und disseminierte intravasale Gerinnung bei intrauterinem und perinatalem Fruchttod. Klin. Wschr. 48, 13 (1970)
- CHADD, M. A., ELWOOD, P. C., GRAY, O. P., MUXWORTHY, S.M.: Coagulation defects in hypoxic full-term newborn infants, Brit. med. J. 1971 I, 516
- FLETCHER, A. P., ALKJAERSIG, N. and O'BRIEN, J.: Blood hypercoagulability and thrombosis. In: Abstract volume, XIII. International Congress of Hematology, Munich, 2-8 August, 1970

- FLETCHER, A., ALKJAERSIG, N., OWENS, O., WOLFF, G., SMITH, J.R.: Blood hypercoagulability, thrombosis, and acute myocardial infarction, J. Lab. clin. Med. 78: 798, 1971
- GAFFNEY, P. J.: Molecular aspects of fibrin clot solubilization. Nature New Biology, 234, 281, 1971
- GODAL, H. C., ABILDGAARD, U.: Gelation of soluble fibrin in plasma by ethanol. Scand. J. Jaemat. 3, 342, 1966
- GRAEFF, H., KUHN, W. und BLEYL, U.: Verbrauchskoagulopathie und Lysekoagulopathie bei menschlichen Äquivalenten des Sanarelli-Shwartzman-Phänomens (generalisiertes Shwartzman-Phänomen). Thrombosis et Diathesis Haemorrhagica, 17, 144, (1967)
- GRAEFF, H., BELLER, F.K.: Hematological studies during endotoxin infusions in rabbits. Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.) 20, 420 (1968)
- GRAEFF, H., MITCHELL, P.S., BELLER, F.K.: Fibrinolytic enzyme system of the kidney related to renal function after infusion of endotoxin in rabbits. Lab. invest. 19, 169 (1968)

GRAEFF, H., WRESCHNIOK, K. and v. HUGO, R.: Identification of fibrin and/or fibrinogen degradation products in plasma samples by PAA gel electrophoresis and intra gel immuno-precipitation. In: Abstract volume, II. International Congress on Thrombosis and Haemostasis, Oslo, 12-16 July, (1971)

GRAEFF, H. and v. HUGO, R.: Identification of fibrinogen derivatives in plasma samples. Thrombosis et Diathesis Haemorrhagica, 27, 610, (1972)

GRAEFF, H., v. HUGO, R., KUHN, W., SCHOLZ, H., ERNST, A. and GASTROPH, R.: Fibrinogen derivatives with a molecular weight than the parent molecule in cord vein plasma of newborns. Klinische Wochenschrift, 1973

GRAEFF, H., v. HUGO, R. und HAFTER, R.: Störungen der Fibrinogen-Fibrinumwandlung in klinischer Sicht. Derivate des Fibrins in der Perinatalperiode. Tagg. d. Deutschen Arbeitsgemeinschaft für Blutgerinnungsforschung, Febr. 1973, Münster, Suppl. Thrombos. Diathes. haemorrh.

GRAEFF, H., v. HUGO, R. and HAFTER, R.: In vivo formation of soluble fibrin monomer complexes in human plasma. Thrombosis Research, in press.

- GRAEFF, H. and v. HUGO, R.: Fibrinogen derivatives with a higher molecular weight than that of fibrinogen in a case of premature separation of the placenta. Submitted for publication
- GRAEFF, H., v. HUGO, R. und MARX, R.: Nachweis von Fibrinogen-derivaten mit einem höheren Molekulargewicht als dem des Fibrinogens bei Patienten mit Herzinfarkt. In: Herzinfarkt und Blutgerinnung, XV. Hamburger Symposion über Blutgerinnung, 2. und 3. Juni 1972
- HARDER, A. J., STRAUB, P.W.: In vitro and in vivo induction of cryofibrinogen and "paracoagulation" by reptilase. Thrombos. Diathes. haemorrh. 2, 337 (1972)
- v. HUGO, R., GRAEFF, H.: Fibrin-s and fibrin-i derivatives with a molecular weight higher than the parent molecule. Characterization of in vitro products from human plasma. Abstract volume, III. Congress, Int. Soc. Thromb. Haemost. Washington, Aug. 1972
- v. HUGO, R., GRAEFF, H.: Fibrin-i degradation products with a molecular weight higher than that of fibrinogen. Identification and characterization of in vitro products from human plasma. Thrombos. Diathes. haemorrh., 1973

- v. HUGO, R., GRAEFF, H.: Fibrinogen derivatives with a higher molecular weight than that of the parent molecule in cord vein plasma of newborns. II. Further characterization from pooled plasma, Klin. Wschr., 1973
- v. HUGO, R., GRAEFF, H.: Formation of soluble fibrin monomer complexes in human plasma. Thrombosis Research, volume 3, 1973
- HUSEBY, R. M., BANG, N. U.: Fibrinogen. In: Thrombosis and Bleeding Disorders. Ed. by BANG, N.U., BELLER, F. K., DEUTSCH, E. and MAMMEN, E. F., Thieme, Stuttgart, Academic Press, New York, 1971
- KUHN, W., GRAEFF, H.: Gerinnungsstörungen in der Geburtshilfe, Stuttgart, Thieme, 1970
- KUHN, W., BRÖCKER, G., GRAEFF, H., BLEYL, U., FROST, H.: Nachweis von Fibrinmonomeren im Nabelvenenblut. Klin. Wschr. 49, 106 (1971)
- NIEWIAROWSKI, S., GUREWICH, V.: Laboratory identification of intravascular coagulation. J. Lab. Clin. Med. 77, 665 (1971)
- NIEWIAROWSKI, S., NANDI, M.: Acrylamide gel electrophoresis of fibrinogen and fibrin degradation products. British Journal of Haematology, 21, 71 (1971)

- SHAINOFF, J. R., PAGE, J. H.: Significance of cryoprofibrin in fibrinogen-fibrin conversion. J. exp. Med. 116, 687 (1962)
- SMITH, G. F., BANG, N. U.: Formation of soluble fibrin polymers. Fibrinogen degradation fragments D and E fail to form soluble complexes with fibrin monomer. Biochemistry, 16, 2958, (1972)
- STRAUGHN, W. III, WAGNER, R. H.: A simple method for preparing fibrinogen. Thrombos. Diathes. haemorrh. 16, 198, 1966
- TRIANAPHYLLOPOULOS, D. C., TRIANAPHYLLOPOULOS, E.: Fibrinogen and fibrin derivatives. In: Thrombosis and Bleeding Disorders. Ed. by BANG, N. U., BELLER, F. K., DEUTSCH, E., MAMMEN, E. F., Thieme, Stuttgart, Academic Press, New York, 1971
- VERMYLEN, J., DONATI, M. B., VERSTRAETE, M.: The identification of fibrinogen derivatives in plasma and serum by agarose gel filtration. In: VERSTRAETE, M., VERMYLEN, J., DONATI, M. B., Fibrinogen Degradation Products. Scandinavian Journal of Haematology, Supplementum, vol. 13, 1971
- VANSELOW, H.: Endotoxininfusion beim schwangeren Kaninchen. Inauguraldissertation 1974.

Herrn Professor Dr. med. Josef Zander danke ich für die Überlassung des Themas. Zu großem Dank bin ich den Herren Priv.-Doz. Dr. med. Henner Graeff, Dr. med. René von Hugo und Dr. R. Hafter für ihre stete Beratung und Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit verpflichtet, ebenso danke ich meinem Kommilitonen Herrn Holger Vanselow, der mir bei der Durchführung der Experimente stets zur Seite stand.

Der medizinisch technischen Assistentin, Frl. E. Hoffmann, danke ich für ihre Unterstützung bei den Laboruntersuchungen.

L e b e n s l a u f

Ich, Michael Karl Niedertzoll, wurde am 16. Okt. 1947 als Sohn des Kfm. Abteilungsleiters Joachim Niedertzoll und seiner Ehefrau Adelheid, geb. Jonda, zu Augsburg geboren.

Von 1954 bis 1958 besuchte ich die Volksschule vor dem Roten Tor in Augsburg und trat dann in das Humanistische Gymnasium bei St. Stephan in Augsburg ein. Hier absolvierte ich meine ganze Gymnasialzeit und legte 1967 das Abitur ab.

Im Herbst 1967 begann ich in München mein Medizinstudium und legte hier 1968 mein Vorphysikum und 1970 mein Physikum ab. Ich beendete mein Studium 1973 an der Universität München mit dem Staatsexamen und bin seit November 73 als Medizinalassistent an der chirurgischen Abteilung des Krankenhauses Bobingen tätig.

